

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 88177949 A

(43) Date of publication of application: 18.10.1983

(51) Int. Cl. C07C103/42
C07D493/08, C08B 37/16
// A61K 47/00
(C07D493/08, C07D311/00, C07D313/00)

(21) Application number: 57061343
(22) Date of filing: 12.04.1982

(71) Applicant: TAKEDA CHEM IND LTD
(72) Inventor: HARADA SETSUO
OKADA TOSHIYA

(54) CLATHRATE COMPOUND OF
LANKACIDIN-GROUP ANTIBIOTIC
SUBSTANCE

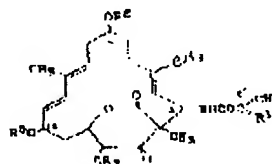
(57) Abstract:

PURPOSE: To provide the titled clathrate compound having increased solubility and stability in water, by adding a solution of cyclodextrin to a lankacidin-group antibiotic substance.

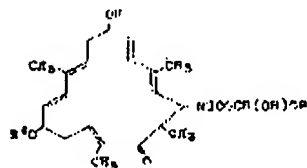
CONSTITUTION: The objective compound is a lankacidin-group antibiotic substance of formula I (R^1 is O, H or OH; R^2 and R^3 are H or lower alkanoyl) or formula II (R^4 is H or lower alkanoyl) included in a cyclodextrin (e.g. α , β , γ , δ -cyclodextrin). It can be prepared by adding the corresponding lankacidin to a solution obtained by dissolving a specific amount of the cyclodextrin in a solvent (e.g. water), stirring the mixture, and if necessary, separating the insoluble matter by filtration. The administration path of lankacidin has been limited because of its insolubility and instability in water, however, the compound can be easily stabilized and made soluble in water by this process. Accord-

ingly, it can be administered by injection or as an oral drug, and the rate and the amount of absorption in the living body are increased.

COPYRIGHT: (C)1983 JPO&Japio



I



II

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—177949

⑮ Int. Cl.³
C 07 C 103/42
C 07 D 493/08
C 08 B 37/16
// A 61 K 47/00
(C 07 D 493/08
311/00
313/00)

識別記号

庁内整理番号
7375—4H
7252—4C
7133—4C
7057—4C
—
7169—4C
7169—4C

⑯ 公開 昭和58年(1983)10月18日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 9 頁)

⑭ ランカシジン群抗生物質包接化合物

31

⑰ 特 願 昭57—61343

⑱ 出 願 昭57(1982)4月12日

⑲ 発 明 者 原田節夫

川西市清和台西2丁目3番地の

⑳ 発 明 者 岡田惇也

枚方市藤阪北町11番4号

㉑ 出 願 人 武田薬品工業株式会社

大阪市東区道修町2丁目27番地

㉒ 代 理 人 弁理士 松居祥二

明 細 書

1. 発明の名称

ランカシジン群抗生物質包接化合物

2. 特許請求の範囲

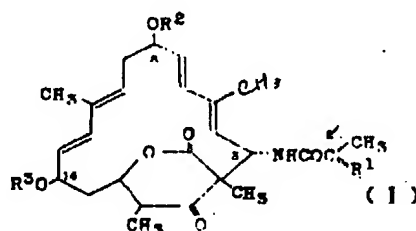
ランカシジン群抗生物質のシクロデキストリン
による包接化合物。

3. 発明の詳細な説明

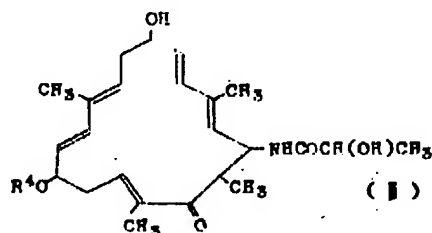
本発明はランカシジン群抗生物質の包接化合物
に関する。

さらに詳しくは、本発明はランカシジン群抗生
物質のシクロデキストリンによる包接化合物に関
するものである。

ランカシジン群抗生物質 (Lankacidin-group
antibiotics) は、微生物により産生され、ま
たはその生産物を化学的ならびに微生物学的に変
換することによつて製造される下記一般式 (I)
または (II) の構造を有する抗生物質の総称で、
抗生物質 T-2636 とも称される。



〔式中、R¹ はOまたはH、OHを、R²、R³は
それぞれ水素または低級アルカノイルを示す〕



〔式中、R⁴ は水素または低級アルカノイルを示
す〕

式中、R²、R³、R⁴ で示される低級アルカノ
イルはC₁-₆ が好ましく、とりわけC₁-₃ のもの
が好ましい。

具体的には、ランカシジンA (I; $R^1:O, R^2:H, R^3:COCH_3$), ランカシジンC (I; $R^1:O, R^2:H, R^3:H$), 同8-アセテート (I; $R^1:O, R^2:COCH_3, R^3:H$), 同8-プロピオネート (I; $R^1:O, R^2:COCH_2CH_3, R^3:H$), 同14-プロピオネート (I; $R^1:O, R^2:H, R^3:COCH_2CH_3$), 同8, 14-ジアセテート (I; $R^1:O, R^2:COCH_3, R^3:COCH_3$), ランカシジノールA (I; $R^1:H.OH, R^2:H, R^3:COCH_3$), ランカシジノール (I; $R^1:H.OH, R^2:H, R^3:H$), ランカサイクリノール (I; $R^4:H$), ランカサイクリノールA (I; $R^4:COCH_3$) などが挙げられ、これらの抗生物質の製造法ならびに構造や物理化学的、生物学的性質についても明らかにされている〔ザ・ジャーナル・オブ・アンチバイオチクス、第24巻、1、13、23頁(1971年); 同誌、第26巻、647頁(1973年); ケミカル・ファーマシューカル・ブレテン、第22巻、99頁(1974年); 同誌、第23巻、2201頁(1975年)〕。

発明を完成した。

すなわち本発明は、ランカシジン群抗生物質のシクロデキストリンによる包接化合物ならびにその実用的な製造法を提供するものである。

本発明のランカシジン群抗生物質包接化合物は、例えば溶媒に一定量のシクロデキストリンを溶解した溶液に、対応する量のランカシジンを加え、攪拌し、必要により不溶物を除去することにより製造することができ、固形物(粉末、結晶など)として得るときは、例えばこの包接化合物溶液を、又はシクロデキストリンとランカシジンの下記に示す一定のモル比の混合物に、たとえば少量の水を加えて練合したものを凍結乾燥することにより製造することができる。

溶媒としては、通常水(必要により注射用蒸留水など)が用いられるが、これに少量(0.001~1% V/V)のアルコール類(メタノール、エタノールなど)、ケトン類(アセトン、メチルエチルケトンなど)を添加して用いることもできる。

攪拌は、通常0℃~室温で行い、要する時間は

参照)。

さらに、近年ランカシジン群抗生物質の用途に関する研究が進展し、抗細菌感染症剤として、また抗腫瘍剤として有効であることが明らかにされ〔ザ・ジャーナル・オブ・アンチバイオチクス、第24巻、29頁(1971年)、キャンサー・ケメテラピー・レポート、第89巻、919頁(1975年)参照〕、さらに抗ブタ赤痢剤としても有効であり〔特開昭55-162979号明細書参照〕急性毒性についても非常に弱いことが認められている。

しかし、これらランカシジン群抗生物質は、水に無溶性で、かつ水溶液中で不安定であるため、薬剤などとして開発する場合、投与経路が限定されるなどという欠点を有していた。

本発明者らは、ランカシジン群抗生物質が特異的にシクロデキストリンにより包接されることを見出し、本包接化合物が水に容易に溶けると、さらに包接化によりランカシジン群抗生物質の水中の安定性を増大させることを明らかにし、本

加えたランカシジンが溶解すれば十分で、通常30分~24時間である。

凍結乾燥は、通常-70℃~室温で行う。

シクロデキストリンについてはその重合度の相異から α -, β -, γ -および δ -シクロデキストリンの4種が知られている。本発明においてはいずれのシクロデキストリンも用いる事ができるが、そのうち特に β -あるいは γ -シクロデキストリンを、またはこれらを組合せて使用することが好ましい。

シクロデキストリンの使用濃度としては 10^{-4} mole/l ~ 10^{-1} mole/l の範囲でランカシジン群抗生物質を水溶化し、包接化の効果が現われるが、とりわけ β -シクロデキストリンの場合は 10^{-3} mole/l ~ 10^{-2} mole/l の、 γ -シクロデキストリンの場合は 10^{-3} mole/l ~ 10^{-1} mole/l の濃度が有利である。

用いるランカシジン群抗生物質としては、前記の抗生物質のいずれでもよいが、とりわけランカシジンA、ランカシジンC、ランカシジンCB-

エステル体、ランカゼノールにおいてより効果的である。またランカゼン群抗生物質の1つを単独で用いるのもよく、2または3の複数の抗生物質を用いてもよく、さらに単独の抗生物質に少量の他の抗生物質や、全く別の不純物が含まれていてもよい。

用いたシクロデキストリンに対応するランカゼンの量(モル比)は、例えば次のようにして計算することができる。

まずシクロデキストリンの濃度比を変えた溶液中にランカゼン群抗生物質を加え、シクロデキストリン溶液中に溶解したランカゼン群抗生物質の濃度を求める。これにより最大量のランカゼンを溶解する最少のシクロデキストリン濃度や実用的なそれぞれの濃度なども判明する。次に下式に従いシクロデキストリンとランカゼンのモル比を求める。

モル比 = (シクロデキストリンのモル濃度) : (ランカゼンの、一定のシクロデキストリン溶液中に対する飽和溶液のモル濃度 - ランカゼンモ

水に対する飽和溶液のモル濃度)

かくして得られた本発明の包接化合物溶液および粉末は有機溶媒(例、酢酸エチル、メチルイソブチルケトン)、各種担体など(例、シリカゲル、ハイポーラス樹脂)に接触するとシクロデキストリンと抗生物質に分離させることができるが、水に溶かした場合は安定で、包接化合物を出発原料に換算した濃度で出発原料との抗菌性を比較すると第1表のように殆んど差がなかった。

これらの結果から、β-シクロデキストリンを用いるときは、ランカゼンAとは2:1、ランカゼンCまたはランカゼノールとは1:5:1なるモル比が得られる。

第1表 ランカゼン群包接化合物の安定性(24℃, 6日間)

化合物	St aureus 209Pに対する抗菌活性*1 (阻止径mm)	溶解度		
		0日	3日	6日
ランカゼンA	メタノール*2	26.75	27.0	23.25
	β-CD*3	23.75	27.0	22.0
ランカゼンC	メタノール*4	28.25	29.5	29.5
	β-CD*4	28.5	29.0	30.0
ランカゼノール	メタノール*2	25.75	27.0	30.0
	β-CD*3	28.0	28.0	30.5

- *1 トリアチカーゼ大豆芽天(Baltimore Biologicals Ltd製)を検定培地とするペーパードイスク検定法
- *2 1000μg/ml, メタノール中でこれらの抗生物質は安定
- *3 β-シクロデキストリンによる包接化合物の水溶液(抗生物質換算1000μg/ml)
- *4 100μg/ml

さらにこれらの包接化合物は第2表に示すように水に対する溶解度が抗生物質のみならずシクロデキストリンの飽和水溶液よりも増大するという物性を示した。この事実が包接化合物が水中で安定に存在していることを明白に示している。

第2表 包接化合物の水に対する溶解度

化合物	溶解度(μg/ml)				
	(1)	(2)	(3)*	(4)	(5)
ランカゼンA	0.181	2.69	11.3	>10.0	>40
ランカゼンC	0.268	3.54	11.3	>10.0	>37
ランカゼノール	0.655	3.78	11.3	>10.0	>37

(1): 抗生物質の水に対する溶解度

- (2): M/100 β-シクロデキストリン溶液に対する抗生物質の溶解度
- (3): (2)におけるβ-シクロデキストリンの濃度
- (4): 包接化合物(抗生物質含量に換算)の水に対する溶解度(最大量)
- (5): (4)における包接化合物中に含まれるβ-シクロデキストリンの濃度
- * β-シクロデキストリンの水に対する飽和濃度は18μg/ml

かくして、ランカゼン群抗生物質は容易に水溶解、安定化され、たとえば注射剤、経口剤として投与可能となり、前記した作用を有する抗生物質製剤として広く開発されうる途が開けた。

このような物性を示す包接化合物の生物学的利点としてはまず生体内でのバイオアベイラビリティの改善が挙げられる。すなわちランカゼン群抗生物質は水に非常に難溶性であり、非経口または経口的に投与する場合、たとえばカルボキシメチルセルロースまたはアラビアゴムなどを用いて懸濁液として使用されてきたが、包接化合物

の場合には水溶液で容易に投与可能で、かつ水溶液中での安定性を増すために生体内への吸収速度および吸収量の増大が容易に予想される。

本発明による包接化合物は、前記のとおり公知のランカシジン系抗生物質の用途と同様の投与対象、用途に用いることができる。

包接化合物を注射剤として用いる場合溶液中に通常医薬用、動物薬用に使用される溶解補助剤たとえばアルコール、プロピレングリコール、グリセリンなど、痛み止めとしてたとえばベンジルアルコールなどあるいは等張剤として無機塩類たとえば食塩、重硫酸ナトリウムなどが含まれていても差しつかえない。また包接化合物を経口剤として用いる場合、錠剤、カプセル剤など通常医薬用に使用される剤型であればいかなる形でも活性に關係なく用いる事が出来る。

投与量は、対象疾患、症状、投与方法などによつて異なるが、抗豚赤痢剤として用いる場合、その投与量は成豚1頭に対し、皮下注では1日量0.2~1.0gを1~2回に分けて投与するのが好

ましい。

なお、ランカシジン抗生物質は、例えばストレプトミセス・ロチエイ・パール・ポリリスによつて生産され、本株は農工研(FRI)、財団法人発酵研究所(IFO)、アメリカン・タイプ・カルチュアー・コレクション(ATCC)にそれぞれFERMP-6155、IFO-12507、ATCC-21250として寄託されている。

以下実施例によつて本発明の内容をさらに具体的に説明するが、本例をもつて本発明の内容をなんら規制するものではない。

実施例1

水およびシクロデキストリン(以下CDと略称)を含む水溶液中にランカシジンCの粉末を加え4g/100mlに調整した。混合液をミキサーで攪拌後5℃で2時間振とうした。濾紙で混合液を濾過し、濾液の227~229nmにおける吸光度を測定し、ランカシジンCの濃度を求めた。結果は第3表のとおりであつた。

第3表 溶解度(μg/ml)

CD	CDの濃度(Mol/l)				
	0	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹
β-CD	260	280	650	3730	—
γ-CD	260	260	460	2390	3790

これらのデータからランカシジンCはβ-CD溶液に最も良く溶解し、次いでγ-CD溶液に良く溶解した。

実施例2

実施例1と同様の方法でランカシジンC-αプロピオネイト(以下C8-Pと略称)およびC14-αプロピオネイト(以下C14-Pと略称)のCD溶液における溶解度を調べた結果は第4表のとおりであつた。なお振とうは1時間行なつた。

第4表 溶解度(μg/ml)

抗生物質	CD	CDの濃度(Mol/l)				
		0	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹
C8-P	β-CD	18	46	328	3840	—
	γ-CD	—	19	54	249	1610
C14-P	β-CD	19	21	67	159	—
	γ-CD	—	19	35	114	273

これらのデータからαプロピオネイト誘導体は同一試薬濃度ではβ-CD溶液に良く溶解し、C8-PはC14-Pよりもはるかに良い溶解性を示した。

実施例3

実施例1と同様の方法でランカシジンAおよびランカシジンCならびにランカシジノールのβ-CD溶液における溶解度を調べた結果は第5表のとおりであつた。なお振とうは16時間行なつた。

表3 溶解度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

抗生物質	β -CDの濃度 (mol/ℓ)					
	0	10^{-4}	2×10^{-4}	5×10^{-4}	10^{-3}	5×10^{-3}
ランカシジン A	181	195	201	265	400	632
ランカシジン C	237	262	304	409	586	934
ランカシジン D	268				715	
ランカシジノール	444				914	1360
						2130
						2750

これらのデータからランカレジン A およびランカレジン C ならびにランカシジノールの水に対する溶解度は B-C D の濃度 $10^{-3} \text{mol}/\ell$ 付近から β -CD の濃度に比例して増大し、水のみに対する溶解度の差に關係なくほぼ同一レベルの溶解度を示した。このことはこれらの化合物が β -CD と安定な包接体を形成している事を示唆している。

実施例 4

実施例 1 と同様の方法でランカレジン群抗生物質関連化合物の β -CD 溶液 ($10^{-2} \text{mol}/\ell$) における溶解度を調べた結果は第 6 表のとおりであつた。なお濃度は 30 分から 1 時間行なつた。

第 6 表 溶解度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

抗生物質	β -CD の濃度 (mol/ℓ)		
	0	10^{-2}	比率*
ランカレジン C 8,14-ジアセテート	16.2	681	42.0
同 14-ブチレート	17	118	6.94
同 8-ブチレート	9	404	44.9
同 8-アセテート	74.3	2770	37.3
ランカレジノール 8,14-トリアセテート	36.9	332	9.0
同 8,14-ジアセテート	440	1780	4.05
ランカレジノール A	170	3070	18.1
イソ-ランカレジノール	796	3200	4.02
ランカサイクリノール	824	3610	4.38

* $10^{-2} \text{mol}/\ell$ β -CD 溶液における溶解度/水における溶解度

これらのデータからランカレジン群抗生物質がシクロデキストリンによつて水溶性を増加させる事は明らかである。

実施例 5

β -シクロデキストリン (2.04g) を水 (180 ml) に溶解した液中にランカレジン A (450 mg) を加え (モル比 1:2:1)、5℃ で 1.5 時間攪拌した。わずかに残つた不溶物を除去し、母液を凍結乾燥した。2.4g のランカシジン A 包接化合物が粉末として得られた。

実施例 6

β -シクロデキストリン (1.7g) を水 (150 ml) に溶解した液中にそれぞれランカシジン C (460 mg) またはランカレジノール (460 mg) を加え (モル比 1:5:1)、5℃ で 30 分間攪拌した。実施例 5 と同様に反応液を処理し、それぞれランカシジン C 包接化合物 (2.1g) およびランカレジノール包接化合物 (2.1

g) が粉末として得られた。

なお UV 吸収におけるランカレジン群抗生物質包接化合物の $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ は第 7 表に示すとおりであつた。

第 7 表 $\lambda_{\text{max}} 227 \sim 229 \text{nm}$ における分子吸光度

包接化合物	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$
ランカシジン A	150 \pm 20
ランカシジン C	213 \pm 20
ランカシジノール	227 \pm 20

実施例 7

ランカレジン A またはランカシジン C を 1 ml 中に 100 μg 含むメタノール溶液 5 ml を、pH 4.5 または 7.0 の緩衝液および β -シクロデキストリンを含む緩衝液それぞれ 4.5 ml に加えて試料液とした。本試料液をガラス容器に入れ密栓して 40℃ に保存し経時的に 5 ml を取り、酢酸エチル 5 ml を加え抽出した。有機層を取り無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でランカシジン A またはラン

カシジンCを定量した。

RPLC条件

機器 Waters Associates ALC/GPC 240

カラム μ Poracil 30cm \times 3.9mm ϕ

溶剤系 n-ヘキサン-ニソプロピルアルコール

ル：酢酸(7.5:2.5:0.2)

第8表 ランカシジンAおよびランカシジンCのメタノール性水溶液中の安定性

化合物 (10 μ g/ml)	pH	β -シクロデキストリン 添加量(mg/ml)	残存率(%)		
			0 hr	4 hr	6 hr
ランカシジンA	4.5	なし	100	34.5	
		10	100	91.9	85.7
	7.0	なし	100	17.4	
		10	100	58.3	48.1
ランカシジンC	7.0	なし	100		43.7
		10	100		88.2

第8表に示す通り、 β -シクロデキストリンはランカシジンAまたはランカシジンCに対して重量比1000倍添加したときランカシジンAまたはランカシジンCのメタノール性水溶液中の安定性を増大させた。

実施例5. 豚用注射剤の製法

- (1) ランカシジンC 1.0g
- (2) β -シクロデキストリン 3.7g
- (3) 生理的食塩水 100ml

実施例5の工程を無菌状態でを行い、得られた凍結乾燥品を上記量になるようにバイアル瓶に詰め、減圧状態にする。用時生理食塩水を加え、規定量を注射する。

4. 図面の簡単な説明

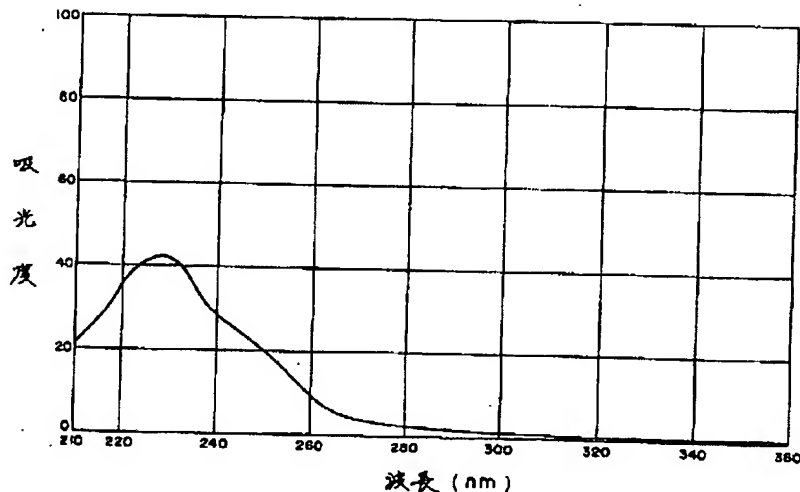
第1図および第2図は実施例5で得られたランカシジンA包接化合物のそれぞれ紫外線吸収スペクトル(以下UVと略称、水中)および赤外線吸収スペクトル(以下IRと略称、KBr)を示す。

第3図および第4図は、実施例5で得られたランカシジンC包接化合物のそれぞれUV(水中)およびIR(KBr)を、第5図および第6図は、実施例5で得られたランカシジンA包接化合物のそれぞれUV(水中)およびIR(KBr)を示す。

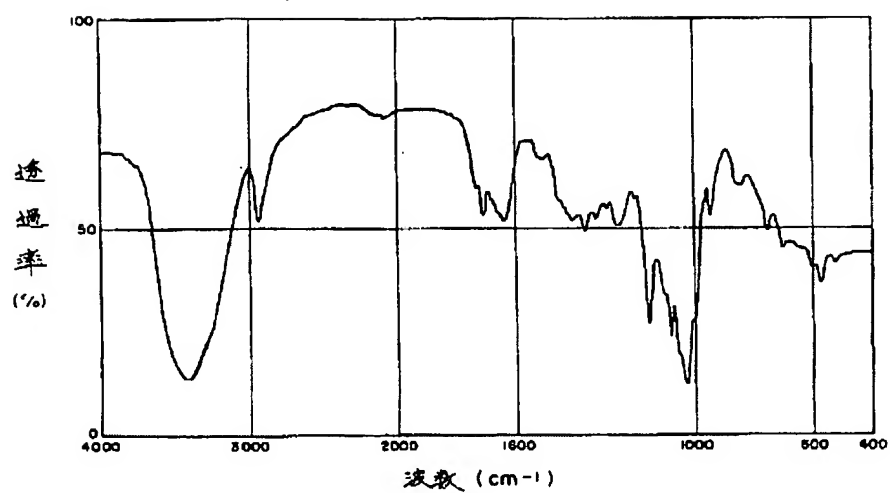
代理人 弁護士 松 居 祥 二



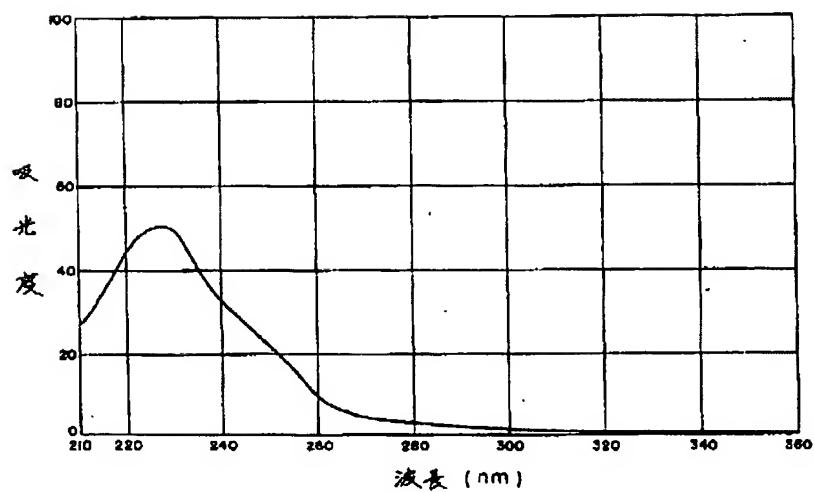
第1図



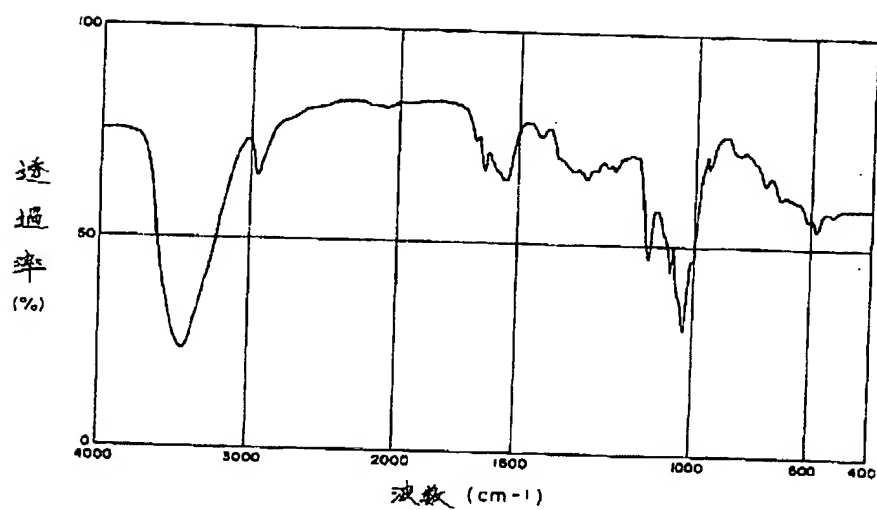
第2図



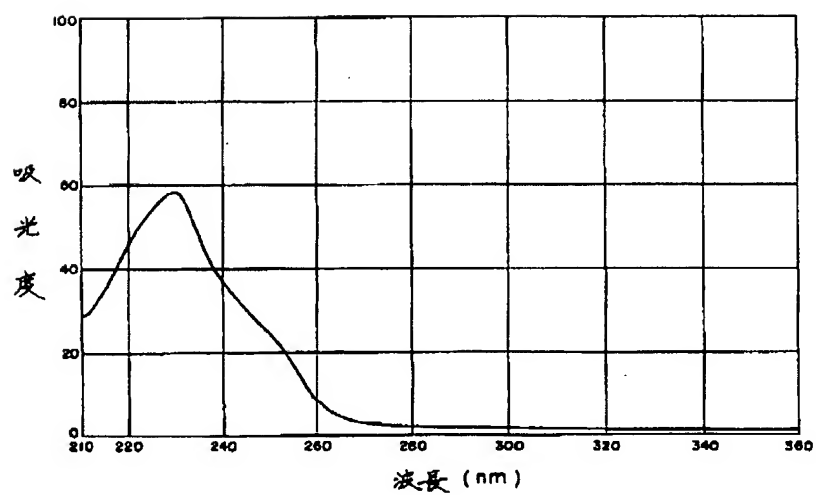
第3図



第4図



第5図



第6図

